

## University of Groningen

### Recepten uit de natuur

Quax, Wim J.

**IMPORTANT NOTE:** You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

1999

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Quax, W. J. (1999). *Recepten uit de natuur*. Rijksuniversiteit Groningen.

**Copyright**

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

**Take-down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

## *Recepten uit de natuur*

### **Inleiding**

“Op een zomerse dag liep het jongetje Floris door het bos. Het was al de vierde opeenvolgende vochtige, warme dag en er lag een soort van lome luiheid over het bos. De vogels hielden zich stil. De planten stonden volop in bloei en ze geurden heerlijk. Floris kon er echter niet zo van genieten, want hij voelde zich helemaal niet lekker. Zijn buik en hoofd deden pijn. Floris ging maar snel naar huis, naar zijn moeder en hij vertelde van zijn klachten. Zij stopte hem vlug in bed. Enkele uren later lag Floris te rillen tussen de lakens en hij was drijfnat van het zweet. Hij had een flinke koorts. Snel riep zijn moeder de dokter erbij. Deze was vlot ter plekke en hij aarzelde niet lang. Hij gaf Floris een papje om te drinken. Een uurtje later lag Floris vredig te slapen.”

Het verhaal van Floris is een alledaags tafereel. Hier gebeurt niets speciaals in uw ogen. Het wordt pas interessant als ik U vertel dat onze hoofdpersoon niet de Nederlandse naam Floris, maar de Chinese naam Yang draagt. En het wordt pas echt bijzonder als ik u vertel, dat Yang leefde in het jaar 168 vóór Christus. En de dokter was niet afgestudeerd aan een Universiteit, maar hij had de kennis verkregen via zijn vader. Dit hele tafereeltje speelde zich af in China. En het papje, dat de Chinese medicijnman gaf, droeg de naam Qing Hao Su, hetgeen letterlijk vertaald “papje van groene plant” betekent. Dit is die groene plant: de éénjarige alsem oftewel *Artemisia annua*.

Mijnheer de rector magnificus, zeer geachte toehoorders;

In het structuurrapport van de leerstoel Farmaceutische Biologie wordt als centrale thema genoemd de levende cel als producent van geneesmiddelen. Volgens het rapport kan daarbij gedacht worden aan cellen van hogere organismen, bijvoorbeeld planten, maar ook aan micro-organismen, geïsoleerde cellen of onderdelen van cellen.

Vanmiddag wil ik u schetsen hoe de levende natuur als matrijs heeft gediend voor de meeste van onze huidige geneesmiddelen. Vervolgens hoop ik u duidelijk te maken dat diezelfde levende natuur recentelijk nog veel meer geheimen heeft prijsgegeven. Deze nieuwe concepten, of beter nog nieuwe recepten uit de natuur, vormen de wegwijzers naar nieuwe en betere farmaca: de biologie als aanjager van de farmacie.

### **Chinese Materia Medica.**

In het oude China werd geneeskracht toegekend aan vele planten. Omstreeks het jaar 200 na Christus is de “Classic of Materia Medica” verschenen met daarin opgenomen 365 geneeskrachtige preparaten, waarvan het merendeel gemaakt van planten. In het jaar 659 is een tweede versie verschenen met daarin 844 preparaten. De receptuur is verbluffend gedetailleerd beschreven en dit wordt algemeen beschouwd als de voorloper van de huidige Pharmacopoeia. In het jaar 1977 is de laatste versie verschenen met daarin opgenomen 5767 therapeutische preparaten voor 80% bestaande uit extracten van planten [ref]. Ook andere volkeren hebben in de loop der eeuwen geneesmiddelen en therapieën ontwikkeld gebaseerd op natuurlijke extracten. Zo is vanuit Peru de kinine naar Europa gebracht. Reeds in de middeleeuwen werd in Engeland beschreven hoe een extract van de *Digitalis* plant, het bekende vingerhoedskruid, kan worden gebruikt ter behandeling van mensen met “ophoping van lichaamsvocht”. Vandaag de dag weten we dat deze mensen last hadden van een zwak hart. Ook van het gebruik van de papaver plant, de producent van morfine en codeïne, zijn meer dan 4000 jaar oude sporen terug te vinden in landen als India, Turkije maar ook in Zwitserland. Niet alle recepten en beschrijvingen uit de overlevering hebben zich echter staande kunnen houden. Integendeel: als we naar die receptuur kijken door onze huidige wetenschappelijke bril dan valt op dat niet alles “evidence based” is. Tussen de genoemde 5767 ingangen in de Chinese Materia Medica staan veel beschrijvingen die wij als huidige generatie wetenschappers

zouden kwalificeren als bijgeloof of erger nog kwakzalverij. Dit heeft het positie van de traditionele kruidengeneeskunde in de 19e en 20e eeuw voor een groot gedeelte bepaald.

### **De betekenis van de traditionele geneeswijzen voor de ontwikkeling van huidige geneesmiddelen.**

De traditionele geneeswijzen zijn een mengeling van empirie en bijgeloof. Wie van u zou vandaag de dag het papje uit de ketel van de alchemist nog klakkeloos willen drinken. Toch moeten we voorzichtig zijn met snel te oordelen, want het gaat er natuurlijk om, om die empirische component te vinden. Ervaringsfeiten, die gebaseerd zijn op waarnemingen en experimenten met patiënten en die tot ons zijn gekomen via de overlevering of oude geschriften. Die ervaringsfeiten zijn de wegwijzers geweest voor het vinden van actieve componenten die onze huidige geneesmiddelen vormen. Zo worden in het jaar 1803 kristallen geïsoleerd uit de papaver: morfine als werkzame bestanddeel is ontdekt. Dit morfine wordt vandaag de dag nog steeds op grote schaal uit papaverplanten geïsoleerd. In 1841 worden de actieve componenten digoxine en digitoxine geïsoleerd uit het reeds genoemde vingerhoedskruid. En tot op vandaag worden patiënten met hartritmestoornissen nog steeds met hartglycosiden geëxtraheerd uit de *Digitalis* plant behandeld. En in 1972 wordt uit de éénjarige alsem, het groene plantje dat de koorts van onze kleine Chinees Yang zo mooi onderdrukt, het stofje artemisinine geïsoleerd. Deze stof blijkt een nieuw mechanisme voor de bestrijding van malaria in petto te hebben. Het is een complexe verbinding opgebouwd uit 3 isopreeneenheden. Het is een vertegenwoordiger van de sesquiterpenen. De verbinding heeft een zeer unieke endoperoxide ring, die een belangrijke rol speelt bij de oxidatieve inactivering van de malariaparasiet. Het mechanisme is afwijkend van de bekende kinine derivaten en derhalve is artemisinine actief tegen de steeds vaker voorkomende kinineresistente malariaparasiet. Ondanks het feit dat 40% van de wereldbevolking door malaria wordt bedreigd, is de financiering van dit onderzoek grotendeels afhankelijk van de giften van de WHO. Elk jaar sterven 2 tot 3 miljoen mensen aan malaria, maar projectaanvragen bij Nederlandse subsidie verstrekken werden stevast afgewezen met het argument dat malaria in ons land niet voorkomt. Het is schrijnend te moeten vaststellen dat de verhoogde incidentie van malaria bij landgenoten als gevolg van vakantiereizen én het verhoogde aantal waarnemingen van de *Anopheles* muskiet rondom Schiphol nu meer gewicht in de schaal lijken te leggen. Artemisinine is één van de onderwerpen van de afdeling Farmaceutische Biologie waaraan in samenwerking met de WHO en ACF/Artecef BV wordt gewerkt. Het is gebleken dat afgeleiden van artemisine -namelijk arthemeter en arteether- effectiever zijn in het uitschakelen van de malariaparasiet en het zijn deze semi-synthetica die op dit moment in de derde wereld al gebruikt worden. Het andere door ons bestudeerde plantje is geen onbekende voor u: fluitekruid (of fluitenkruid zoals we na het Grote Dictee der Nederlandse Taal van afgelopen december moeten zeggen). Reeds in het jaar 900 na Christus wordt in een oud Engels medisch handboek melding gemaakt van genezing van kanker met zalfjes van *Anthriscus sylvestris*. In de afgelopen jaren is dit mooie kruid ontmaskerd als een producent van lignanen. Dit zijn complexe verbindingen die een celdodende werking hebben, belangrijk voor de behandeling van tumoren. Eén van de lignanen met deze eigenschap is podofyllotoxine. De structuurformule werd in 1947 opgehelderd. De cytotoxische activiteit van gezuiverd podofyllotoxine is evenwel te hoog gebleken voor een toepassing in de kankertherapie volgens de huidige normen. De afgeleide verbindingen etoposide en tenoposide blijken de juiste balans tussen effectiviteit en bijwerkingen te hebben en deze stoffen hebben een centrale plaats ingenomen in de bestrijding van testis-kanker en kleinlongcelcarcinoom.

### **De natuurstoffen als matrijs**

De les die we leren uit deze 2 voorbeelden is dat op basis van oude geschriften uit de natuur nieuwe actieve componenten kunnen worden opgespoord. Wat we ook leren is dat deze producten via additionele synthetische stappen nog verder geoptimaliseerd kunnen worden.

Dit is op zichzelf natuurlijk niet verwonderlijk. De verbindingen worden door deze organismen in de natuur natuurlijk niet gemaakt om de mens tot medicijn te dienen! In de eerste plaats dienen ze als verdediging om zichzelf - die plant of dat micro-organisme- te handhaven in de omgeving. Het zijn dan ook vergiften. Een mooie illustratie hiervan zien we bij de oude Grieken: zij gebruikten één en hetzelfde woord voor vergif en geneesmiddel: namelijk het woord *pharmakon*.

Sedert het begin van deze eeuw heeft de chemie een grote betekenis gekregen voor de productie van geneesmiddelen. Kosten, reproduceerbaarheid en de wens om onafhankelijk te zijn van natuurlijke bronnen hebben in ervoor gezorgd dat leeuwendeel van onze huidige geneesmiddelen synthetisch gemaakt worden. Slechts weinigen van u zullen zich realiseren dat ook het eenvoudig aspirientje - we hebben dit jaar het 100 jarige bestaan van dit geneesmiddel- is gemaakt aan de hand van een voorbeeldverbinding uit de natuur, namelijk het salicylzuur uit de wilg. En dit geldt voor driekwart van onze huidige medicijnen: ze zijn gemaakt ofwel synthetisch aan de hand van een natuurstof als matrijs ofwel met een natuurstof als grondstof.

### **Biosyntheseroute ophelderen: het belang van enzymen.**

Het malariaprobleem in de wereld is heel groot en de gehaltes aan medicinale natuurstoffen in planten zijn vaak betrekkelijk laag: zo ook het gehalte aan artemisinine in de éénjarige alsem.

Wanneer een organisch chemicus de structuur van artemisinine en podofyllotoxine bekijkt dan komt hij snel tot de conclusie dat een chemische totaalsynthese een onbegonnen klus is.

Als we de productie van deze stoffen willen opvoeren dan zullen we de cel als fabriekje moeten verbeteren. Als een eerste stap in die richting willen we de biosyntheseroute ophelderen:

Artemisinine is een secundaire metaboliet (d.w.z. dat de verbinding niet essentieel is voor het organisme) die gemaakt wordt uitgaande van farnesyl difosfaat, een sesquiterpeen precursor. Als gevolg van een aantal enzymatische stappen wordt via cadynylation, artemisininezuur, lacton vorming en endoperoxidekoppeling het artemisinine gevormd. Deze enzymen nu, daar draait het om. Dat zijn de machientjes die in staat zijn om hele complexe verbindingen te maken. Kennis over die enzymatische stappen kunnen we op 2 manieren inzetten:

- we kunnen de plantencel als fabriek méér van deze machientjes laten maken. Dan zal er meer artemisinine in het plantje *Artemisia* aangemaakt worden, dat daaruit dan weer geëxtraheerd kan worden
- we kunnen de genetische informatie coderend voor deze enzymen overzetten naar een andere fabriek, b.v. de cellen van een schimmel. Een schimmel groeit veel sneller dan het plantje en daardoor kan de productiesnelheid veel hoger zijn.

Over de haalbaarheid van deze genetische transplantatie valt weinig te voorspellen. Met behulp van recombinant DNA-technieken zal het ongetwijfeld mogelijk zijn de code voor de biosynthese enzymen over te zetten in een schimmel. Of die schimmel dan artemisinine maakt is maar de vraag. Er is echter een reden om optimistisch te zijn. Velen van U zijn ongetwijfeld op de hoogte van het kankermiddel Taxol. Dit diterpeen is gevonden in de schors van een zeldzame *Taxus*-boom, die daarmee meteen met uitroeiing bedreigd werd. Inmiddels blijken ook minder zeldzame *Taxus*-bomen als grondstof te kunnen dienen, maar het middel blijft zeer moeizaam te produceren (en dus tegen hoge kosten). Op zoek naar andere bronnen voor Taxol is men recentelijk gestuit op schimmelsoorten die leven in symbiose met *Taxus*-bomen. Deze schimmels maken Taxol!

Volgens de ontdekkers van deze schimmels is het vermogen om Taxol te produceren gedurende de evolutie overgesprongen van de *Taxus* naar die schimmel. Dat betekent dat de genetische informatie voor de biosynthese van taxol in schimmels moet kunnen werken. Als dit waar blijkt te zijn en ik benadruk het woordje *als*, dan stemt mij dat optimistisch over de mogelijkheid om secundaire metabolieten uit zeldzame planten, in schimmels te produceren. Daarnaast zijn ook bepaalde

precursors van artemisinine, zoals farnesyl difosfaat aangetroffen in schimmels, hetgeen impliceert dat de genetische informatie voor een aantal enzymen inclusief het belangrijke cyclase al in schimmels aanwezig moet zijn. Dit is één van de wegwijzers vanuit de levende natuur, die ik samen met Niesko Pras binnen onze werkgroep de komende jaren zou willen volgen.

## Spiegelbeelden.

Medicijnen zijn vaak complexe chemische verbindingen. Nu hebben complexe chemische verbindingen de eigenschap dat ze in verschillende vormen kunnen voorkomen, vormen die elkaars spiegelbeeld zijn en die niet over elkaar gelegd kunnen worden, precies zoals onze twee handen elkaars spiegelbeeld zijn. Naar analogie van het Griekse woord voor hand noemen we deze verbindingen chiraal. Op de hier getoonde dia [dia lofentanil] ziet U twee spiegelbeelden van lofentanil: een synthetische afgeleide van morfine. Fysisch chemisch gezien zijn deze spiegelbeelden, precies gelijk aan elkaar. Ze hebben hetzelfde molecuulgewicht, hetzelfde kookpunt, hetzelfde NMR-spectrum enzovoorts. Biologisch gezien zijn deze twee moleculen echter geheel verschillend: Het linker molecuul werkt inderdaad pijnstillend, net zoals morfine, het rechtermolecuul werkt helemaal niet pijnstillend, sterker nog het werkt alleen maar tegen, daarom noemen we dat een antagonist. De verklaring voor het verschil in biologische activiteit ligt in het feit dat het aangrijpingspunt voor lofentanil in ons lichaam ook chiraal is, er is dus maar één spiegelbeeld in ons lichaam aanwezig. Evenmin als onze rechterhand past in een linkerhandschoen, evenmin past het rechter-lofentanil in de “receptor” in ons lichaam. Alleen het linker-lofentanil past goed in de receptor. Van de meer dan 1500 synthetische geneesmiddelen welke momenteel in de handel zijn, is ongeveer 40% chiraal, dat wil zeggen ze hebben minimaal één asymmetrisch C-atoom. De overgrote meerderheid van deze chirale geneesmiddelen wordt echter chemisch synthetisch als een mengsel van spiegelbeelden geproduceerd en uit kostenoverweging vaak als een mengsel aan de patiënt gegeven. In dat mengsel, ook wel racemaat genoemd is slechts één spiegelbeeld de actieve component, de andere spiegelbeelden, oftewel stereoisomeren, zorgen voor bijwerkingen of tegenwerkingen zoals bij lofentanil; op zijn best zijn ze gewoon inactief. Vijftien jaar geleden is onder andere door de Nijmeegse hoogleraar Ariëns de strijd aangebonden met deze wat hij noemde “chirale ballast”: onnodige stereoisomeren die eigenlijk niet thuishoren in onze geneesmiddelen, maar die als gevolg van de chemische synthese moeilijk te verwijderen zijn. Er is een proces op gang gekomen waarbij meer en meer gestreefd wordt naar chiraal zuivere geneesmiddelen.

En in dit opzicht blijkt de biologie een veel betere fabriek dan de synthetische chemie. Vrijwel alle uit de natuur geïsoleerde farmaca vertonen chiraliteit en het aandeel aan stereozuivere ofwel homochirale moleculen daarin is bijna 95%. Een aantal van deze verbindingen hebben we al gezien:

- Artemisinine heeft 7 asymmetrische C-atomen: dat betekent dat er maar liefst 128 verschillende isomeren denkbaar zijn, waarvan er maar eentje werkzaam is. Stelt u zich eens voor dat u mengsel van 128 stereoisomeren zou krijgen toegediend, waarvan er 127 overbodig zijn. Gelukkig maakt de plantencel alleen maar de éne isomeer met de correcte conformatie.
- Podophyllotoxine heeft 4 chirale C-atomen: er zijn 16 verschillende isomeren mogelijk. De cel maakt er maar één, waarbij ook nog een aangetekend dient te worden dat de voor activiteit essentiële conformatie van de lactonring synthetisch niet te maken is vanwege de torsie in het molecuul.
- Penicilline: heeft 3 chirale C-atomen en dat is de reden dat de gehele wereldproductie via fermentatie van de *Penicillium*-schimmel gemaakt wordt.

## Recepten uit de natuur: enzymen.

Het geheim van de biosynthese van deze stereozuivere moleculen zit hem in de machientjes die de cel gebruikt voor de katalyse: de enzymen. Enzymen zijn zelf opgebouwd uit chirale bouwstenen,

de aminozuren. Op die manier zijn de enzymen zelf ook weer chiraal en dat stelt ze in staat om spiegelbeelden van verbindingen van elkaar te onderscheiden. De ene isomeer zullen ze omzetten, met de andere isomeer zullen ze niet reageren. De zojuist genoemde complexe natuurstoffen worden door een aaneenschakeling van enzymatische stappen in de levende cel gemaakt. Met de beschikbaarheid van geïsoleerde enzymen is het nu echter ook denkbaar om in het chemische productieproces één of meerdere stappen uit te voeren met een enzym resulterend in de productie van stereozuivere synthetische geneesmiddelen.

Op basis van dit principe is met een uit de natuur geïsoleerd enzym, een esterase, een proces ontworpen om de populaire pijnstiller S-naproxen in zuivere vorm te synthetiseren uitgaande van een racemisch mengsel van naproxenesters. Hieraan heb ik zelf mogen meewerken tijdens mijn periode bij Gist-brocades en dit proces heeft zich inmiddels op grote schaal bewezen. De truc van de esteraskatalyse is in principe voor de stereozuivere synthese van andere geneesmiddelen in te zetten, ware het niet dat het naproxen esterase heel selectief is. Het enzym moet juist iets andere eigenschappen krijgen om als machientje voor andere geneesmiddelen te kunnen dienen. In principe zouden we in de natuur op zoek kunnen gaan naar plaatsen waar als gevolg van het evolutieproces bacteriën of schimmels zijn ontstaan die de gewenste verbindingen kunnen omzetten. De meeste van de synthetische geneesmiddelen komen echter niet zomaar in de natuur voor en de kans op het vinden van het gewenste enzym is heel klein. In dat geval moeten we de natuur een handje helpen en het ontstaan van nieuwe enzymen sturen door in het laboratorium het de principes van Moeder Natuur na te bootsen: we noemen dat proces versnelde evolutie.

### **Verbetering van enzymen:**

Wanneer we het proces van evolutie in de natuur goed bestuderen dan kunnen we daarin drie essentiële stappen onderkennen:

- mutatie van DNA, het erfelijk materiaal.
- recombinatie van DNA
- selectie van de beste eigenschappen

Nu zijn er in de afgelopen jaren dankzij het wetenschappelijk onderzoek in de moleculaire biologie een aantal processen ontdekt die ons in staat stellen de drie essentiële elementen van de evolutie na te bootsen in het laboratorium en los te laten op één enkel gen, dus op één enkele eigenschap. Ik wil u die 3 ontdekkingen kort even schetsen.

- **Muteren:** mutaties nabootsen in het laboratorium was eigenlijk nog de eenvoudigste ontdekking. het enige dat je moet doen is ervoor te zorgen dat het DNA-polymerase dat tot taak heeft het erfelijke materiaal te vermenigvuldigen, fouten gaat maken: het Taq-polymerase dat gebruikt wordt bij de polymerasekettingreactie (PCR), is toevallig een erg slordig polymerase dat onder sommige condities veel mutaties veroorzaakt. Met Taq-polymerase kun je dan ook heel snel een grote bibliotheek van mutanten van één enkel gen maken. U moet dan niet aan een uw huisbibliotheekje denken, maar in een overnachtexperiment kunnen meer dan een miljard mutaties worden gemaakt. De meest van deze zullen negatieve mutaties zijn en leiden tot een slechtere eigenschap gecodeerd door dat gen, slechts enkele zullen positieve mutaties zijn.
- **Kruisen:** seksuele voortplanting is een essentieel onderdeel van de evolutie in de natuur. Via het proces van recombinatie van chromosomen worden er nieuwe combinaties van DNA gemaakt en het is dé methode om goede mutaties met elkaar te combineren en slechte mutaties weer kwijt te raken. Elke plantenveredelaar zal u kunnen vertellen hoe belangrijk het is om een nieuwe variant terug te kruisen met het wilde type, het uitgangsmateriaal. Het kruisen van DNA fragmenten binnen één enkel gen was tot voor kort echter een onmogelijke opgave tot het moment dat Pim Stemmer, een landgenoot, die in Californië zijn geluk gevonden heeft, een zeer elegante techniek ontwikkelde. Het is de methode van “sexual PCR”, zeg maar “sex op zijn smalst”. Door het

inbouwen van een DNA fragmentatie stap in de polymerase kettingreactie ontstaat een hele efficiënte recombinatie van kleinere fragmenten. Hierdoor kunnen positieve mutaties bij elkaar komen en negatieve mutaties weer verwijderd worden.

- Selecteren: voor het selecteren op een bepaalde eigenschap zijn geen algemene principes aan te geven. Een belangrijk kenmerk van elke selectie is wel dat je na de selectie op een nieuwe eigenschap weer snel terug kunt naar het DNA dat codeert voor die eigenschap. Met een mooi woord heet dat de koppeling van het fenotype met het genotype. De kleinste biologische systemen waarmee dat mogelijk is zijn de virussen. Veranderingen die optreden aan de manteleiwitten van virussen zijn direct gecorreleerd aan het erfelijke materiaal van virussen. En zoals U weet virussen zijn in staat om heel snel te veranderen om zo te ontsnappen aan de afweer van ons lichaam. Manteleiwitten van bacteriële virussen oftewel fagen zijn daarom perfecte helpers voor het uitvoeren van selecties van mutant eiwitten. De ontwikkelde methode heet phage-display of faagpresentatie. In de praktijk wordt het DNA coderend voor het te selecteren eiwit of enzym geïnserteerd in het gen coderend voor manteleiwit pIII van een faag. Dat nieuwe DNA (groen) leidt dan tot de presentatie van het nieuwe eiwit (groen) aan de buitenkant van de faag als een fusie met het manteleiwit pIII. Hierop kan nu een bindingselectie worden uitgevoerd, b.v. op de binding aan een nieuw substraat.

Hiermee is de laatste stap voor ons versneld evolutiesysteem voorhanden gekomen. We kunnen nu de uit de natuur geleerde recepten van muteren, kruisen en selecteren toepassen op één enkel eiwit of één enkel enzym.

Al vele jaren heb ik interesse voor deze methodes en bij mijn vorige werkgevers Gist-brocades en Genencor International heb ik bepaalde onderdelen uit deze versnelde evolutiemethode al ontwikkeld en ingezet voor het verbeteren van enzymen. Binnen de werkgroep Farmaceutische Biologie passen we deze methode toe voor het evolueren van lipases en esterases die ingezet kunnen worden bij de scheiding van de genoemde spiegelbeelden van geneesmiddelen. Verder werken wij aan  $\beta$ -lactam acylases: enzymen die gebruikt kunnen worden bij het maken van verbeterde afgeleiden van penicillines en cephalosporines. Het doet mij veel genoegen u hier te kunnen melden dat wij het principe van phage-display met succes hebben ingezet voor het selecteren van verbeterde varianten van het modelenzym  $\alpha$ -amylase. Ook anderen hebben spectaculaire resultaten met deze versnelde evolutietechnieken laten zien. Zo heeft Pim Stemmer een  $\beta$ -lactamase ontwikkeld met een 32.000-voudig verhoogde activiteit.

## **De biologie creëert moleculaire diversiteit**

Ik wil nu nog even teruggaan naar de morfinereceptor, zeg maar de handschoen van de pijnstillert lofantil. In ons lichaam zijn veel meer verschillende handschoenen. Er zijn grote handschoenen, kleine handschoenen, handschoenen met een uitsparing voor alleen de duim etc. Uit de DNA-volgorde van het totale menselijke genoom kan nu al worden afgeleid dat er nog veel meer handschoenen zullen worden gevonden, die we op dit moment niet eens kennen. Vele van deze receptoren zijn betrokken bij ziekteprocessen en dat zijn de potentiële targets voor geneesmiddelen. De cruciale uitdaging van de komende jaren zal zijn dat we verbindingen vinden die hierop passen en die daar iets doen, bijvoorbeeld heel sterk binden, zodat een bepaald target wordt uitgeschakeld, we noemen dat dan een antagonist; of misschien juist heel tijdelijk binden zodat één of ander regulatiesignaal slechts heel kort wordt doorgegeven. Voor sommige handschoenen hebben we een grote hand nodig, voor andere targets misschien een hand met slechts één duim. Kortom we hebben variatie nodig. Nu hebben we binnen onze werkgroep absoluut niet de ambitie om een handschoenenwinkel te beginnen. Dat is het werkterrein van de farmaceutische industrie. Wij willen één handschoen oppakken en laten zien dat de methodes van versnelde evolutie kunnen worden ingezet om eiwitten passend te maken voor bepaalde gewenste interacties met deze targets. Gelukkig hoeven we niet geheel vanuit het niets te beginnen. Van sommige receptoren is bekend

dat er bepaalde eiwitten zijn, die erop passen, de cytokines oftewel groeifactoren zoals interleukines. Deze kunnen een prima start zijn voor het ontwerpen van verbindingen met de eigenschappen van een geneesmiddel. Met andere woorden we willen de principes van muteren, kruisen en selecteren gaan ontwikkelen als een gereedschap voor het maken van nieuwe farmaceutische eiwitten.

Om u ervan te overtuigen dat dit niet uitsluitend dagdromerij is kan ik u melden dat in de VS reeds minimale afgeleiden van humaan groeihormoon en erytropoëetine zijn gemaakt met uitstekende bindingskarakteristieken aan de receptor. Hierbij is gebruik gemaakt van de phage-display techniek. Door hun geringe grootte hebben deze geminimaliseerde eiwitten voordelen als geneesmiddel, met name op het gebied van toediening en transport.

We zijn dan ook heel enthousiast dat we in het kader van de breedtestrategie in een samenwerking tussen de Groningse onderzoeksscholen GIDS en GBB de methode van “sexual PCR” en phage display gaan inzetten voor het maken van geminimaliseerde versies van cytokines, stoffen die kunnen worden ingezet bij de bestrijding van chronische ontstekingen en kanker.

## **Slotwoord**

Ik ben begonnen met de plantenextracten van de Chinese medicijnman en via spiegelbeelden, enzymen en versnelde evolutie ben ik aangeland bij een schets van het toekomstige geneesmiddelen onderzoek. Het element dat deze zaken met elkaar verbindt is het feit dat het allemaal resulteert in geneesmiddelen geïnspireerd door de kennis van de levende natuur, de “bio-logica”. De diversiteit en de chiraliteit van de verbindingen die voortkomen uit natuurlijke processen zullen een zeer hoogwaardige verzameling van kandidaatgeneesmiddelen blijven leveren. Complementair aan het bij de farma-industrie zo populaire “combinatorial chemistry” is er een heuse “combinatorial biology” mogelijk. Voorwaar een fantastisch thema om vandaag de dag aan te werken. Ik wil dan ook de opstellers van het structuurrapport voor de leerstoel Farmaceutische Biologie een compliment maken met de door hun getoonde visie. Ik hoop als eerste bioloog op een leerstoel bij de afdeling Farmacie een goede invulling te geven aan dit onderwerp. Ik heb gemerkt dat de visie van de structuurcommissie niet onopgemerkt is gebleven en ik was dan ook helemaal niet verbaasd toen ik enkele weken geleden het krantenbericht las met als kop: “Farma-industrie van chemie naar biologie”.

## **Opleiding**

Op dit punt aangekomen wil ik een paar woorden zeggen over het onderwijs. Steeds meer farmaca zullen het resultaat zijn van de moderne biotechnologie. Na het in 1982 geïntroduceerde insuline zijn in een rap tempo meerdere biotechnologisch gemaakte eiwitten geregistreerd als geneesmiddel, op dit moment een lijst van 20 producten. Nog veel groter is de lijst van meer dan 200 kandidaatstoffen welke zich nu in klinische testen bevinden. Bij de productie van deze stoffen zijn er problemen opgetreden met de vouwing en de uitscheiding van deze eiwitten, een probleem dat raakt aan een derde onderzoekslijn van de werkgroep farmaceutische biologie, die ik vandaag niet heb kunnen belichten. Desondanks behoeft het nauwelijks verder betoog dat kennis van de moderne biotechnologie een essentieel onderdeel is geworden van de opleiding tot farmaceut. Diezelfde biotechnologie leidt ook tot een veranderde behoefte aan kennis in de farmaceutische industrie en bij de overheden. Elke zichzelf respecterende farmaceutische industrie heeft een “life sciences” divisie zoals uit het getoonde krantenknipsel blijkt. Dit zal voor vele studenten hun toekomstige werkomgeving zijn. Wij zullen in het onderwijs dat onze werkgroep verzorgt, en ik kan U verzekeren dat is niet weinig, de studenten op die toekomst.